

アルベンダゾール、オキシベンダゾール、チアベンダゾール、フルベンダゾール及びメベンダゾール試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
アルベンダゾール	5-プロピルスルホニル-1 <i>H</i> -ベンズイミダゾール-2-アミン
オキシベンダゾール	オキシベンダゾール
チアベンダゾール	チアベンダゾール 5-ヒドロキシチアベンダゾール
フルベンダゾール	フルベンダゾール
メベンダゾール	メベンダゾール

2. 装置

紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC-UV）又は多波長検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC-DAD）

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

アセトニトリル 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

テトラヒドロフラン 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

水 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

メタノール 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

炭酸塩緩衝液 0.1 mol/L炭酸水素ナトリウム溶液900 mLに0.1 mol/L炭酸ナトリウム溶液100 mLを混合する（pH 9.1）。

オキシベンダゾール標準品 本品はオキシベンダゾール98.0%以上を含み、融点は230～231°Cである。

チアベンダゾール標準品 本品はチアベンダゾール99.0%以上を含み、融点は304～305°Cである。

5-ヒドロキシチアベンダゾール標準品 本品は5-ヒドロキシチアベンダゾール98.0%以上を含み、融点は283～286°Cである。

メベンダゾール標準品 本品はメベンダゾール98.0%以上を含み、融点は289°Cである。

フルベンダゾール標準品 本品はフルベンダゾール99.0%以上を含み、融点は260°Cである。

5-プロピルスルホニル-1*H*-ベンズイミダゾール-2-アミン標準品 本品は5-プロピルスルホニル-1*H*-ベンズイミダゾール-2-アミン99.0%以上を含み、融点は222～224℃である。

フルベンダゾール標準品 本品はフルベンダゾール99.9%以上を含み、融点は260℃である。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料5.0 gを量り採り、アセトニトリル20 mL及び*n*-ヘキサン20 mLを加えてホモジナイズした後、毎分3,000回転で10分間遠心分離する。アセトニトリル層及び*n*-ヘキサン層を分液ロートに移し、アセトニトリル層を採る。これに*n*-プロパノール10 mLを加えて、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に炭酸塩緩衝液3 mLを加えて溶かす。

2) 精製

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) にメタノール5 mL、水5 mL及び炭酸緩衝液2 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた溶液を注入した後、水5 mLを注入し、流出液は捨てる。3分間吸引乾燥した後、このカラムにメタノール2 mLを注入し、溶出液を試験溶液とする。

5. 検量線の作成

オキシベンダゾール、チアベンダゾール、5-ヒドロキシチアベンダゾール、5-プロピルスルホニル-1*H*-ベンズイミダゾール-2アミン及びメベンダゾール各標準品について、0.05～10 mg/Lのアセトニトリル溶液を数点調製する。

フルベンダゾール標準品について、0.025～10 mg/Lのアセトニトリル溶液を数点調製する。それぞれHPLCに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液をHPLCに注入し、5の検量線でオキシベンダゾール、チアベンダゾール、5-ヒドロキシチアベンダゾール、フルベンダゾール、5-プロピルスルホニル-1*H*-ベンズイミダゾール-2-アミン及びメベンダゾールの含量を求める。

7. 確認試験

LC/MS又はLC/MS/MSにより確認する。

8. 測定条件

1) チアベンダゾール、5-ヒドロキシチアベンダゾール及び5-プロピルスルホニル-1*H*-ベンズイミダゾール-2-アミンの試験を行う場合

HPLC

検出器：UV又はDAD（波長 チアベンダゾール及び5-プロピルスルホニル-1*H*-ベンズイミダゾール-2-アミン295 nm、5-ヒドロキシチアベンダゾール313 nm付近の極大波長）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径 2.0～6.0 mm、長さ 100～250 mm、粒子径2～5 μm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び0.05 mol/L酢酸アンモニウム（1：4）混液

保持時間の目安：3～8分

2) オキシベンダゾール、フルベンダゾール及びメベンダゾールの試験を行う場合

HPLC

検出器：UV又はDAD（波長 オキシベンダゾール295 nm、フルベンダゾール及びメベンダゾール313 nm付近の極大波長）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径 2.0～6.0 mm、長さ 100～250 mm、粒子径2～5 μm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び0.05 mol/L酢酸アンモニウム（2：3）混液

保持時間の目安：4～7分

9. 定量限界

オキシベンダゾール 0.03 mg/kg

チアベンダゾール 0.02 mg/kg

5-ヒドロキシチアベンダゾール 0.02 mg/kg

フルベンダゾール 0.01 mg/kg

5-プロピルスルホニル-1*H*-ベンズイミダゾール-2-アミン 0.03 mg/kg

メベンダゾール 0.02 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

ベンズイミダゾール化合物を試料からアセトニトリルで抽出し、アセトニトリル／ヘキサン分配により脱脂した後、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製しHPLC-UV又はHPLC-DADにより測定する方法である。

11. 参考文献

竹葉、他：食品衛生学雑誌、第44巻、第5号、246～252頁、2003年（「HPLCによる畜産食品中のベンズイミダゾール系寄生虫駆除剤の分析」）。

12. 類型

D